

УДК 576.895.121

АДАПТИВНОЕ ЗНАЧЕНИЕ СМЕНЫ ПОКРОВОВ У ПРОЦЕРКОИДОВ КАРИОФИЛЛИДНЫХ И ПСЕВДОФИЛЛИДНЫХ ЦЕСТОД

© Ж. В. Корнева, Л. Г. Поддубная

Изучена последовательная смена покровов на ранних этапах развития процеркоидов у псевдофиллидных и кариофиллидных цестод. И у кариофиллидных, и у псевдофиллидных цестод первичные покровы специализированы как секреторные структуры и осуществляют выведение секрета в ответ на иммунную атаку хозяев. Впервые показано, что наружный синцитиальный слой с образующими его первичными покровными клетками в определенный период развития дегенерирует, а встраивающиеся в тегумент малодифференцированные клетки дают начало вторичным (дефинитивным) покровам. У *T. nodulosus* в процессе формирования вторичных покровов происходит элиминация некоторого количества активных ядер.

Покровы ленточных червей представлены наружным безъядерным цитоплазматическим слоем, соединенным отростками с погруженными цитонами (Lumsden, 1975; Куперман, 1988, и др.). В онтогенезе цестод уже на ранних этапах наблюдается формирование синцитиального тегумента (Threadgold, 1984), что позволяет обеспечивать быстрый функциональный ответ на изменение в окружающей среде без дополнительных морфофункциональных перестроек (Давыдов, 1991).

Полифункциональная природа тегумента лентецов подразумевает выполнение, наряду с основной — барьерной — также абсорбционно-трофической и защитной функций. Последняя направлена на нейтрализацию иммунитета хозяев и осуществляется как с участием поверхностных микроструктур, так и с помощью различных секреторных продуктов, образующихся в цитонах и выделяющихся на поверхность червей (Давыдов, Микряков, 1988). Степень дифференцировки покровного синцития у цестод определяется характером паразито-хозяинных отношений (Давыдов, 1991).

Данное исследование посвящено изучению адаптивных структур покровов на стадии процеркоида у представителей псевдофиллидных и кариофиллидных цестод.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования выбраны цестоды отряда Pseudophyllidea — *Trienophorus nodulosus* и отряда Caryophyllidea — *Khawia armeniaca*. Процеркоидов *T. nodulosus* получали из полости тела копепода *Cyclops vicinus*, *C. strenuus* путем экспериментального заражения последних корацидиями. Процеркоиды *K. armeniaca* были получены из полости тела естественно зараженных олигохет *Potamothrix hammoniensis*.

Материал фиксировали в 2.5 %-ном глutarовом альдегиде на фосфатном буфере pH = 7.2 в течение 1.5—2 ч. Постфиксация осуществлялась четырехокисью осмия на том же буфере в течение 1 ч. После заливки в агар-агар материал дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации, ацетоне и заключали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали 4 %-ным водным раствором уранилацетата, свинцом по Рейнольдсу и просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM—100C при 80 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Псевдофиллидные цестоды. Инвазионный свободноплавающий корацидий *Triaenophorus nodulosus* это шестикрючный зародыш, окруженный ресничной оболочкой. В цитоплазме синцитиальной ресничной оболочки наблюдаются многочисленные ядра, митохондрии и крупные липидные капли (Куперман, 1973). Тело личинки снаружи покрыто сплошным цитоплазматическим слоем от 0.1 до 0.5 мкм толщины, который содержит 1—2 ядра (Корнева, 1994), расположенных обычно в задней трети корацидия, т. е. в той части шестикрючного зародыша, где расположены крючья. Наружная поверхность цитоплазматического слоя образует складки и пластинчатые выросты различной длины, а внутренняя подостлана базальной пластинкой, окружающей личинку. Периферическую область корацидия наряду с волокнами соматической мускулатуры заполняют тегументальные клетки, объединенные в синцитий. Отростки тегументальных клеток, армированные микротрубочками, пронизывают слой базальной мускулатуры, базальную пластинку и образуют на своих апикальных концах булавовидные расширения, в которых наблюдаются плотные скопления секреторных гранул (рис. 1, А). С наружной цитоплазматической оболочкой корацидия эти расширения связаны специализированными клеточными контактами типа септированных десмосом. Секреторные гранулы были обнаружены двух типов: первые — округлые, электроноплотные, диаметром 0.1—0.3 мкм, тогда как вторые, содержащиеся в меньшем количестве, имеют вид палочковидных телец до 0.25 мкм длины (Davydov e. a., 1995).

В первом промежуточном хозяине — веслоногоем рачке — личинка вступает в паразитическую фазу своего развития и становится процеркоидом. В процессе проникновения в полость тела хозяина она утрачивает как ресничную оболочку, окружающую шестикрючного зародыша, так и наружный цитоплазматический слой, лежащий на базальной пластинке. Булавовидные выросты тегументальных клеток расплаываются по базальной мембране процеркоида и образуют первичные покровы в течение нескольких часов после инвазии (рис. 2, А; см. вкл.). Характерной особенностью первичного (личиного) тегумента является наличие множества округлых гранул электроноплотного секрета, присутствующих как в цитонах, так и в наружной цитоплазме. Однако основная масса секрета выделяется в полость тела хозяина в течение 1—1.5 сут с момента заражения рачка. Одновременно в течение первых двух суток на поверхности личиночных покровов начинается формирование первой «генерации» коротких и широких микроворсинок, которые достигают 0.39 ± 0.006 длины, 0.08 ± 0.001 мкм ширины (рис. 1, Б; 2, Б).

К концу первых, в начале вторых суток развития у процеркоидов *T. nodulosus* начинается процесс дегенерации цитонов первичного тегумента. В цитоплазме наблюдаются активно функционирующие комплексы Гольджи, первичные и вторичные лизосомы, а позднее мультисамеллярные и мультивезикулярные тельца, тогда как секреторные гранулы в цитонах и в наружном слое цитоплазмы встречаются редко. Ядра тегументальных клеток крупные, овальные, хроматин полностью деспирализован (рис. 1, В; 2, В). Незначительное количество свободных рибосом в цитонах личиночных покровов делает их визуально светлее других специализированных и малодифференцированных клеточных элементов. Наружный слой первичного тегумента, связанный с цитонами цитоплазматическими отростками, также становится электроно-светлым и содержит из клеточных органоидов только крупные округлые митохондрии.

Дегенерация первичного тегумента процеркоида сопровождается, с одной стороны, появлением в нем малодифференцированных клеток, мигрирующих из нижележащей паренхимы и встраивающихся в покровный синцитий, с другой стороны — процессом элиминации наружного цитоплазматического слоя. Первоначально поверхность первичных покровов образует единичные выпячивания, которые впоследствии увеличиваются в размерах и отшнуровываются. В определенный период развития процеркоида, на 3—4-е сутки после инвазии, процесс дегенерации первичных покровов настолько интенсифицируется, что личинка *T. nodulosus* оказывается от-

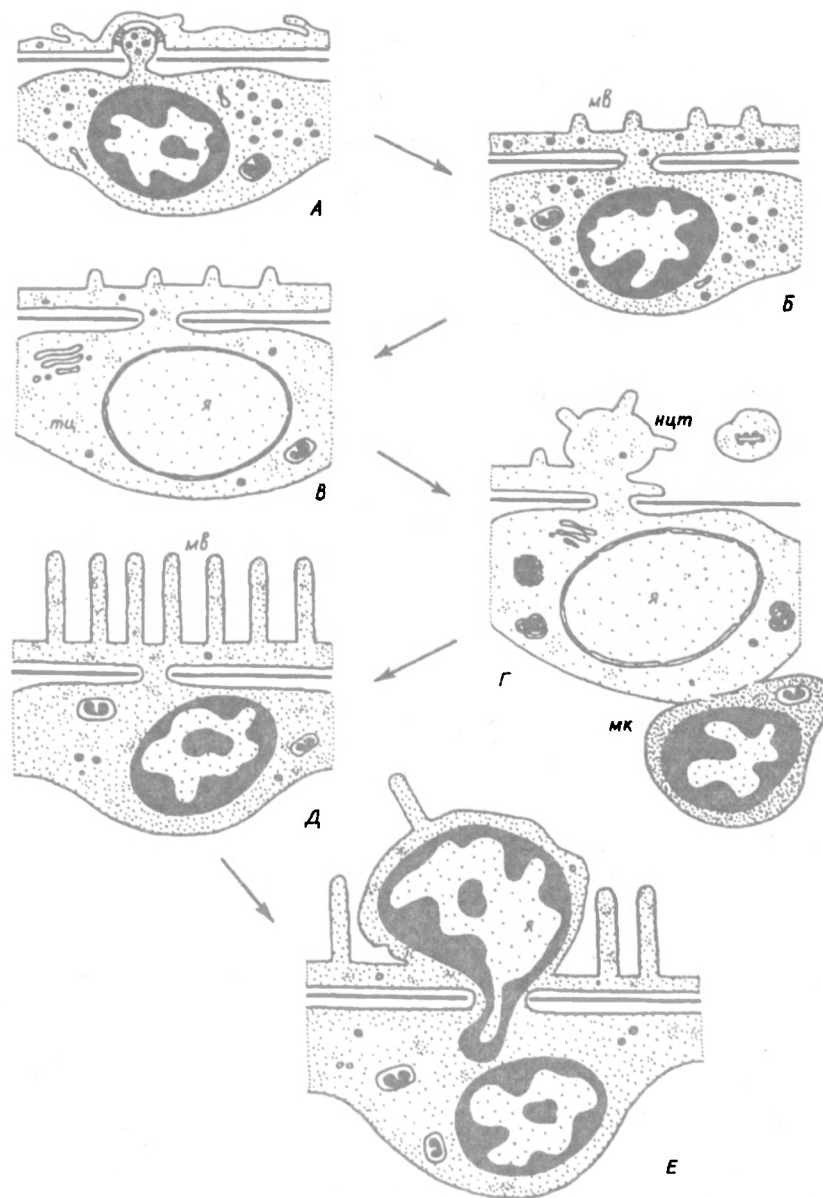


Рис. 1. Схема последовательной смены покровов у процеркоидов псевдофиллидных и кариофиллидных цестод.

А — соединение булабовидно расширенного отростка первичнотегументальной клетки с наружным цитоплазматическим слоем корацидия; Б — железистые первичные покровы; В — первичные покровы после секреции; Г — элиминация первичных покровов; Д — вторичные покровы; Е — элиминация части ядерного материала; мв — микроворсинки; мк — малодифференцированные клетки; нцт — наружная цитоплазма тегумента; тц — тегументальные цитоны; я — ядро.

Fig. 1. Scheme of tegument moult in procercooids of pseudophyllid and caryophyllid cestodes.

границенной от организма хозяина либо полуразрушенным наружным слоем тегумента, либо непосредственно базальной пластинкой (рис. 1, Г; 2, В). Области, где в результате отслаивания и отшнуровки первичных покровов базальная пластинка контактирует с внешней средой, невелики по размерам. Процесс отслаивания наруж-

ной цитоплазмы первичных покровов происходит одновременно, распространяясь от передней части процеркоида к заднему концу тела.

Малодифференцированные клетки, сливающиеся с синцитием первичного тегумента (рис. 1, Г), постепенно замещают цитоны, участвовавшие в образовании первой генерации микроворсинок. Начавшиеся ранее аутофагические процессы в первичном тегументе завершаются полным автолитическим разрушением его цитонов. Малодифференцированные клетки дают начало вторичным (дефинитивным) покровам (рис. 2, Г). Начальные этапы развития вторичного тегумента характеризуются главным образом возникновением на его поверхности второй генерации микроворсинок, которые достигают 0.74 ± 0.008 длины, 0.076 ± 0.002 мкм ширины, т. е. визуально выглядят более длинными и тонкими, чем микроворсинки, подвергшиеся элиминации при смене покровов (рис. 1, Д; 2, Д). Малодифференцированные клетки, мигрирующие из подлежащей паренхимы и формирующие вторичный синцитий тегумента, меняют морфологическую картину покровов. На этой стадии онтогенеза *T. nodulosus* в цитонах содержится значительное количество свободных рибосом, а в ядрах наблюдаются крупные округлые ядрышки, что свидетельствует об активных синтетических процессах, протекающих в клетках. Некоторое количество активных ядер цитонов, сформировавших синцитий вторичных покровов, мигрирует к базальной пластинке процеркоида и по отросткам, соединяющим цитоны с наружным слоем, проникает в последний (рис. 1, Е; 3, А, Б; см. вкл.). Впоследствии такие ядра с окружающим их тонким слоем цитоплазмы отшнуровываются и элиминируются (рис. 3, В).

В дальнейшем микроворсинки второй генерации замещаются микротрихиями, формирующимися, как это было показано ранее у представителей *Pseudophyllidea* и *Cyclophyllidea*, как на основе микроворсинок, так и субмембранно в наружном цитоплазматическом слое (Braten, 1968; Тимофеев, Куперман, 1973; Lumsden e. a., 1974; Richards, Arme, 1984; Куперман, 1988) и сохраняющимися на всех последующих стадиях онтогенеза.

Кариофиллидные цестоды. Наружный синцитиальный цитоплазматический слой личинок *K. armeniaca* на начальных этапах их паразитирования в полости тела олигохет *P. hammoniensis* морфологически однороден и специализирован как секреторное образование. Слой наружной цитоплазмы 0.63 ± 0.03 мкм толщины, содержит многочисленные электроноплотные гранулы округлой, реже неправильной формы, $0.15 \pm 0.009 \times 0.11 \pm 0.007$ мкм (рис. 3, Г). В проксимальной части этого слоя сосредоточено большое количество митохондрий, встречаются отдельные липидные тела диаметром 1.9 ± 0.12 мкм и единичные рибосомы. Поверхность тегумента покрыта короткими, равномерно расположенными микроворсинками 0.18 ± 0.01 мкм длины и диаметром 0.11 ± 0.004 мкм (рис. 1, Б; 3, Г). На всем протяжении тела процеркоидов образуются небольшие выпячивания апикальных участков наружной цитоплазмы, которые в дальнейшем отшнуровываются (рис. 1, Г; 3, Д). На первых этапах морфогенеза процеркоидов тегументальные цитоны с крупными округлыми ядрами доминируют среди прочих клеточных элементов (рис. 1, В; 3, Е). Они продуцируют секреторные гранулы.

По структуре гранулы аналогичны обнаруженным в дистальной цитоплазме (рис. 1, Б; 4, А; см. вкл.). Из органоидов в клетках присутствуют цистерны комплекса Гольджи, митохондрии, выявлено значительное содержание аутофагосом (рис. 4, А). Наблюдаются многочисленные скопления экскреторных липидов (рис. 4, Б), которые через покровы экскретируются во внешнюю среду (рис. 4, В). Помимо цитонов в составе покровов имеются единичные малодифференцированные клетки с крупным ядром и цитоплазмой, богатой рибосомами.

Дальнейшие процессы морфогенеза сопровождаются увеличением в составе покрова количества малодифференцированных клеток. Вышеописанные секреторные цитоны отсутствуют (рис. 1, Г, Д; 4, Г). Последние, по мере накопления в их цитоплазме лизосом, аутофагируются. Морфологические преобразования касаются и слоя дистальной цитоплазмы. На данном этапе он заполнен многочисленными рибосомами и митохондриями и несет микроворсинки, длина которых в переднем

отделе процеркоида *K. armeniaca* составляет 0.56 ± 0.03 , в задних отделах — 0.82 ± 0.01 мкм. Поперечные срезы микроворсинок новой генерации показывают наличие внутреннего цилиндра, отделенного от плазматической мембраны светлым промежутком (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование ультраструктурного строения покровов ранних стадий развития псевдофиллидных и карофиллидных цестод свидетельствует об имеющем место последовательных изменениях структуры тегумента, наблюдаемых с момента заражения хозяина. Во-первых, проникая в полость тела хозяина, псевдофиллидные личинки утрачивают не только ресничную оболочку, но и наружный цитоплазматический слой. Булавовидно расширенные отростки первичных покровных клеток, расплываясь по базальной пластинке, формируют синцитиальный тегумент (первичные покровы). Исследование смены покровов у спороцисты *Fasciola hepatica*, после проникновения мирацидия в брюхоногого моллюска, выявило сходные процессы у трематод (Southgate, 1970; Xylander, 1987; 1996).

Во-вторых, нами впервые показано, что наружный синцитиальный пласт с образующими его первичными покровными клетками в определенный период развития дегенерирует, а встраивающиеся в тегумент малодифференцированные клетки дают начало вторичными (дефинитивным) покровам.

Первичный тегументальный синцитий специализирован как железистый аппарат. Выведение секрета на начальных этапах лярвогенеза несомненно имеет адаптивное значение и начинается в ответ на иммунную атаку хозяев. У процеркоида *T. nodulosus* выведение секрета приурочено к 1—2-м суткам после инвазии, тогда как у процеркоидов карофиллидией этот процесс занимает более продолжительный отрезок времени, до двух недель. Такая разница объясняется, вероятно, тем, что продолжительность развития карофиллидных личинок в беспозвоночном хозяине до инвазионного состояния составляет 50—70 дней, тогда как у процеркоида *T. nodulosus* — около 10 дней.

Липидные капли, характерные для цитонов тегумента *K. armeniaca*, в первичных покровах *T. nodulosus* не наблюдаются. По-видимому, этот факт можно объяснить тем, что корацидий *T. nodulosus* при заражении копепод утрачивает ресничную оболочку, в которой сосредоточены все липидные скопления, тогда как *K. armeniaca* не имеет в жизненном цикле стадии свободноплавающей онкосферы, поскольку хозяевами заглатываются непосредственно яйца карофиллидией. Липидные капли удаляются из организма *K. armeniaca* посредством секреции во внешнюю среду покровами и выделительной системой. Выведение липидов наряду с электроноплотными гранулами позволяет предположить их участие в активации железистого секрета процеркоидов.

Дегенерация первичного тегумента процеркоидов, вероятно, вызвана завершением его узкоспециализированной деятельности, связанной с защитой онкосфер, вступивших на паразитический путь развития.

Дальнейшие морфогенетические преобразования покровов вызваны, по нашему мнению, необходимостью смены их доминирующей функции с абсорбционно-трофическую. При этом происходит активная миграция из нижележащей паренхимы малодифференцированных клеток, встраивающихся в тегументальный синцитий и полностью обновляющих его. Дифференциация таких клеток идет по пути обеспечения максимально эффективного поглощения питательных веществ. Интенсификации данного процесса способствуют микроворсинки второй генерации, сформированные в процессе преобразования покровов. Их длина в 2—3 раза превышает таковую микроворсинок первичного тегумента. Вычисление увеличения поверхности тела за счет микроворсинок, проведенное по методике Грэбера и Шторха (Graeber, Storch, 1979), показало, что поверхность тела процеркоидов *K. armeniaca* увеличивается в 8.71 раза, а в задних отделах тела в 14.45 раз (Поддубная, 1988).

Ранее показано, что личиночные покровы циклофиллидей в ответ на макрофагальную реакцию хозяев помимо секреции веществ, обладающих защитными свойствами, формируют на поверхности мощный мукополисахаридный слой, изолирующий и таким образом предохраняющий начальные стадии развития личинок (Кашин, 1986). Вторичные покровы карофиллидных процеркоидов за счет удлинения апикальных концов микроворсинок в так называемые бичевидные отростки формируют тонкий фибриллярный слой (Поддубная, 1995). У процеркоида *T. nodulosus* подобных образований на поверхности тегумента обнаружено не было, что, по-видимому, объясняется сравнительно непродолжительным временем, необходимым для достижения паразитом инвазионности.

Обнаруженный нами факт выселения малодифференцированных ядер при формировании вторичных покровов *T. nodulosus*, по-видимому, является особенностью цитодифференцировки, встречающейся у представителей класса Cestoda. У *C. laticeps* была описана подобная элиминация отдельных ядер синцитиального эпителия, выстилающего стенки всех без исключения протоков половой системы (Давыдов, Колесникова, 1992). Сходные особенности протекания таких различных процессов, как формирование дефинитивного тегумента у *T. nodulosus* и протоков репродуктивной системы у *C. laticeps*, позволяют предположить избыточность ядерного материала, принимающего участие в образовании синцитиальных покровов и выстилок.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту № 96-04-49080.

Список литературы

- Давыдов В. Г. К вопросу о структуре, функции и происхождении тегумента у представителей *Cercomeromorpha* // Тр. ЗИН АН СССР. 1991. Т. 241. С. 138—152.
- Давыдов В. Г., Микряков В. Р. Адаптивные структуры покровов тела некоторых цестод, связанные с защитой паразитов от влияния организма хозяина // Иммунологические и биохимические аспекты взаимоотношений между паразитом и хозяином. М.: Наука, 1988. С. 88—100.
- Давыдов В. Г., Колесникова Г. А. Дифференцировка протоков половой системы *Caryophyllaeus laticeps* (Cestoda, Caryophyllidae) // Информ. бюл. ИБВВ АН СССР. 1992. Т. 94. С. 55—61.
- Давыдов В. Г., Корнева Ж. В., Куперман Б. И. (Davydov V. G., Korneva J. V., Kuperman B. I.). The development of the tegument in ontogenesis of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidae) // *Folia Parasitologica* 1995. Vol. 42. P. 269—279.
- Кашин В. А. Сравнительная морфология и цитохимия желез проникновения некоторых циклофиллидей // Паразитология. 1986. Т. 20, вып. 2. С. 126—131.
- Корнева Ж. В. Клеточный состав и ультраструктурная организация корацидия *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda; Pseudophyllidae) // Паразитология. 1994. Т. 28, вып. 4. С. 276—282.
- Куперман Б. И. Ленточные черви рода *Triaenophorus* — паразиты рыб. Л.: Наука, 1973. 208 с.
- Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука, 1988. 167 с.
- Поддубная Л. Г. Ультратонкое строение некоторых карофиллидных цестод: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1988. 24 с.
- Поддубная Л. Г. Особенности генезиса покровов процеркоидов карофиллидных цестод // Паразитология. 1995. Т. 29, вып. 1. С. 13—18.
- Тимофеев В. А., Куперман Б. И. Электронно-микроскопическое исследование процессов возникновения и формирования покровов у цестод на примере *Triaenophorus nodulosus* // Паразитология. 1973. Т. 7, вып. 4. С. 339—348.
- Braten T. The fine structure of the tegument of *Diphylobothrium latum*. A comparison of the plerocercoid and adult stages // *Z. Parasitenk.* 1968. Bd 30, H. 1. S. 104—112.
- Graeber K., Storch V. Elektronenmikroskopische und morphometrische Untersuchungen am Integument von Cestoda und Trematoda (Plathelminthes) // *Zool. Anzeiger*. 1979. Bd 202, H. 5/6. S. 331—347.
- Lumsden R. D. Surface ultrastructure and cytochemistry of parasitic helminths // *Exper. Parasitol.* 1975. Vol. 37, N 2. P. 267—339.

- Lumsden R. D., Oaks J. A., Mueller J. F. Brush border development in the tegument of the tapeworm. *Spirometra mansonoides* // J. Parasitol. 1974. Vol. 60, N 2. P. 209—226.
- Rickards K. S., Arme C. Maturation of the scolex syncytium in the metacestod of *Hymenolepis diminuta*, with special reference to microtrix formation // J. Parasitol. 1984. Vol. 88, N 2. P. 341—349.
- Southgate V. R. Observations on the epidermis of the miracidium and on the formation of the tegument of the sporocyst of *Fasciola hepatica* // Parasitology. 1970. Vol. 61. P. 177—190.
- Threadgold L. T. Parasitic Platyhelminths // Biol. Integument, Berlin, 1984. P. 131—191.
- Xylander W. E. R. Ultrastructure of the lycophora larva of *Gyrocotyle urna* (Cestoda, Gyrocotylidae) 3. The protonephridial system // Zoomorphol. 1987. Vol. 107. P. 88—95.
- Xylander W. E. R. Neodermata // Westheide, W., R. M. Rieger (Hrsg.): Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und Wirbellose. N. Y.; Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1996. S. 230—258.

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина
РАН, п. Борок, 152 742

Поступила 7.07.1998

ADAPTIVE SIGNIFICANCE OF THE TEGUMENT MOULT IN CARYOPHYLLID AND PSEUDOPHYLLID CESTODES

Zh. V. Korneva, L. G. Poddubnaya

Key words: Cestoda, *Triaenophorus nodulosus*, *Khawia armeniaca*, proceroid, tegument, moult, ultrastructure.

SUMMARY

Two moult processes of the tegument at earlier development stages of proceroids in pseudophyllid and caryphyllid cestodes have been studied. It is recovered, that coracidium of *Triaenophorus nodulosus* during the penetration into the first intermedial host loses both ciliated layer and external cytoplasmic layer, which covers the six hooked germ. Mace-like processes of tegumental cells stretch along the basal plate and form a primary tegument. At earlier stages of parasitism of pseudophyllid and caryphyllid cestodes the primary cover layers are specialized in secretion tissues to answer an immune attack of the host. It is shown for the first time, that an external syncitial layer and its primary cover cells degenerate at certain period of development, and non-differentiated cells form the secondary covers.

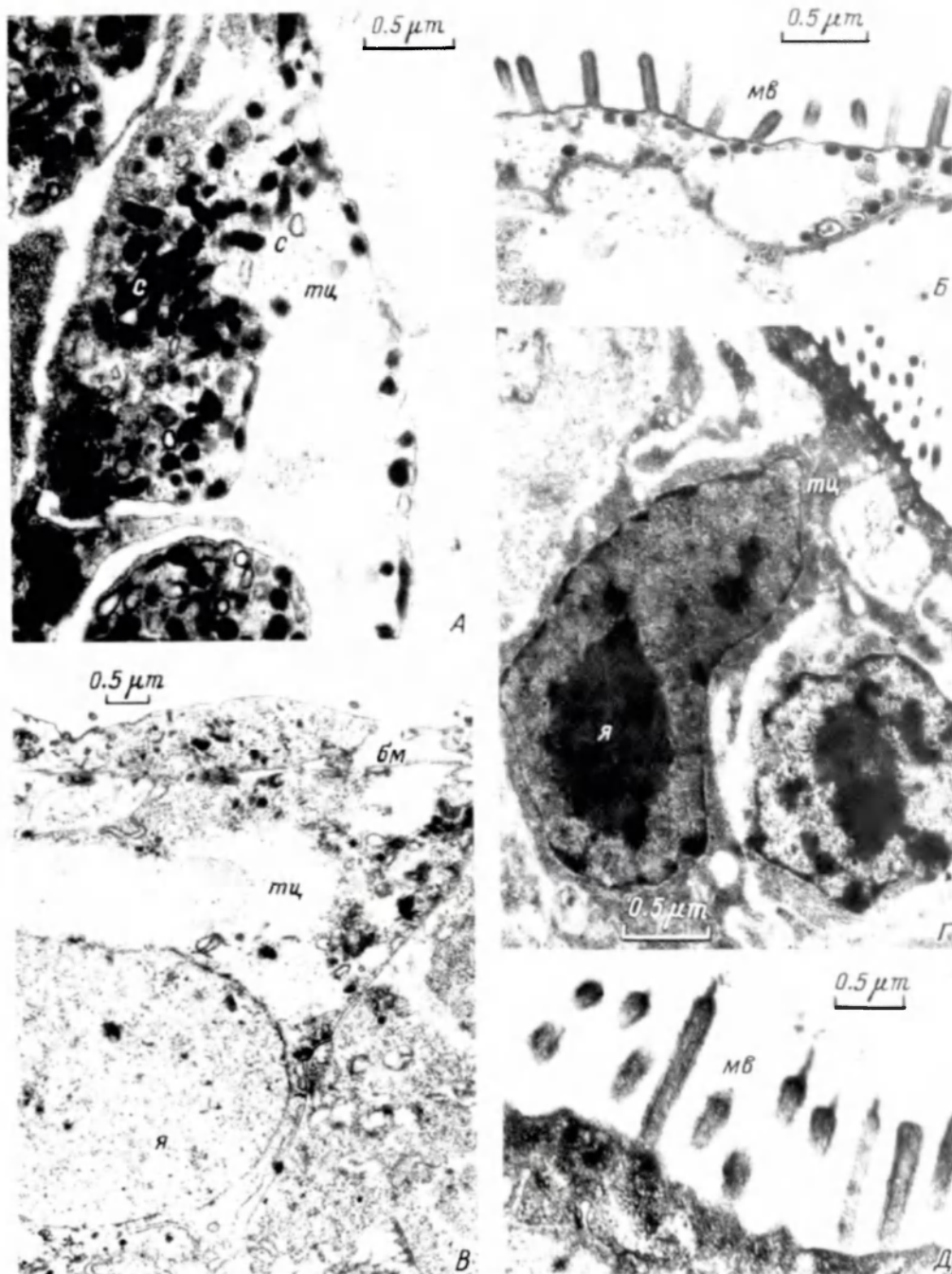


Рис. 2. Ультраструктурная организация покровов псевдофиллидных процеркоидов.
 А — железистые первичные покровы; Б — микроворсинки первой генерации; В — элиминация первичных покровов; Г — вторичные покровы; Д — микроворсинки второй генерации. бм — базальная мембрана; с — секреторные гранулы.
 Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

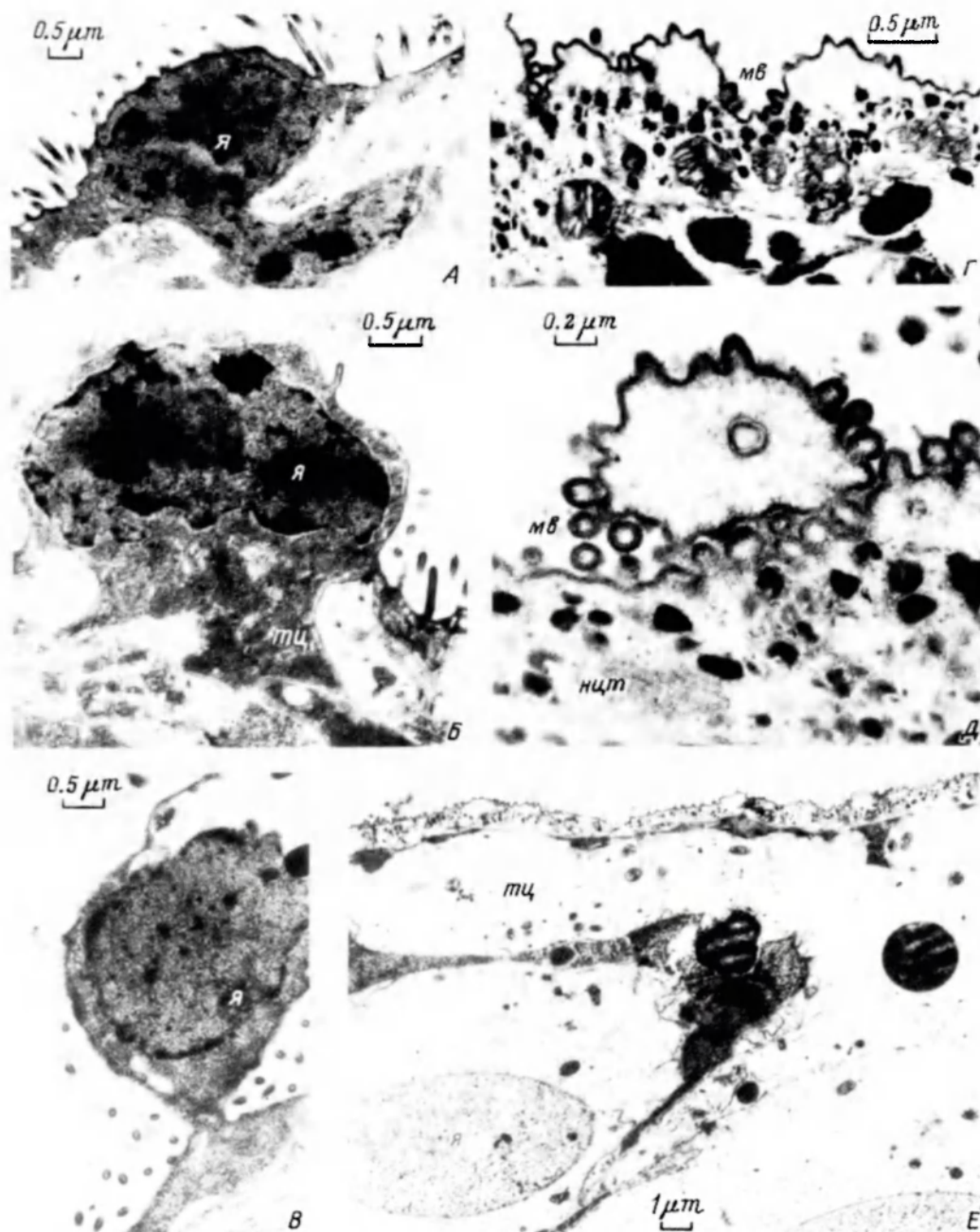


Рис. 3. Элиминация ядерного материала у псевдофиллидных цестод (А—В) и первичные покровы кариофиллидных цестод.

Г — наружная цитоплазма первичного тегумента с микроворсинками первой генерации; Д — отшнуровка цитоплазматических выростов; Е — первичные тегументальные цитоны. л — липиды.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Elimination of nuclear material in pseudophyllid cestodes.

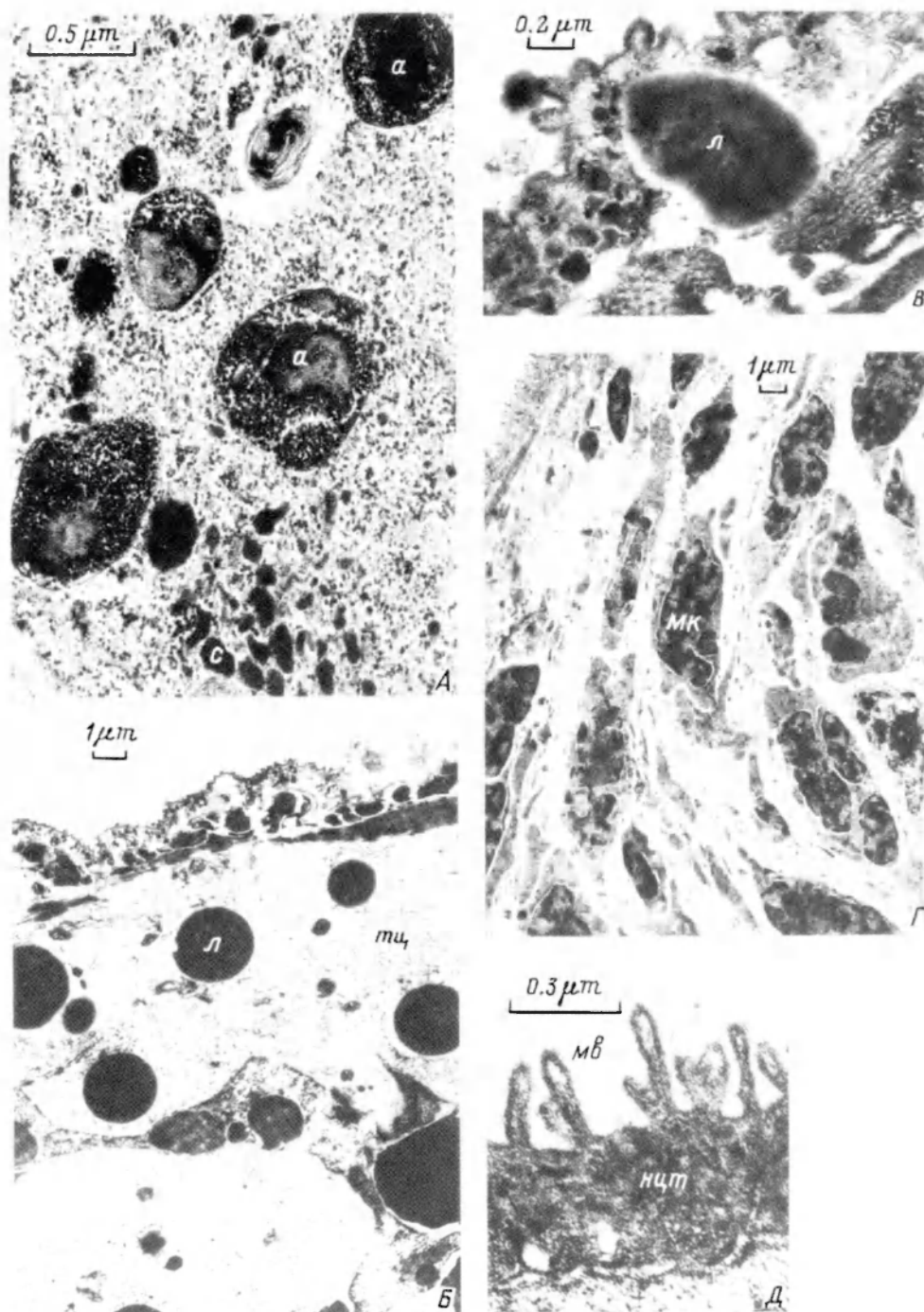


Рис. 4. Первичные и вторичные покровы кариофиллидных цестод.

А — цитоплазматические органеллы первичных тегументальных цитонов; Б — скопления липидов; В — экскреция липидных капель; Г — питоны вторичных покровов; Д — микроворсинки второй генерации; а — аутофагосомы.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1—3.

Fig. 4. Primary and secondary covers in caryophyllid cestodes.